

Experimentelle Untersuchungen
über das Auftreten
von Hämatin in faulendem Blut

von

OTTO BRANDT

Aus dem Institut für Gerichtliche Medizin und Krimina-
listik der Universität Erlangen
Direktor Professor Dr. Dr. E. W e i n i g

Experimentelle Untersuchungen über das Auftreten von
Hämatin in faulendem Blut

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen



vorgelegt von
Otto Brandt
aus Leer (Ostfriesland)

1. Referent: Prof. Dr. Weinig

2. Referent: Prof. Dr. Beck

Tag der mündlichen Prüfung: 27.11.1958

Experimentelle Untersuchungen
über das Auftreten
von Hämatin in faulendem Blut

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung

Bisherige Kenntnisse über das Auftreten von Hämatin

B. Hauptteil

1. Nachweismethoden

a. Ältere Methoden

b. Die Methode nach Schwerd

2. Untersuchungsmaterial

3. Ergebnisse und Diskussion

4. Das papierelektrophoretische Verhalten der Farbstoffe im faulenden Blut

5. Methodik bei den papierelektrophoretischen Versuchen

6. Untersuchungen mit Frischblut und seinen Lösungen

7. Ergebnisse der papierelektrophoretischen Untersuchungen an faulendem Blut

C. Literaturverzeichnis

Experimentelle Untersuchungen über das Auftreten von Hä- matin in faulendem Blut

Einleitung

Bisherige Kenntnisse über das Auftreten von Hämatin

Hämatin wurde erstmals von L e c a n u isoliert und von ihm als "hämatosin" bezeichnet. Die deutsche Bezeichnung schlug 1839 B e r z e l i u s vor. 1931 wurde der Farbstoff durch F i s c h e r u. T r e i b s kristallisiert dargestellt (S t i c h) .

Das Hämatin entsteht aus dem Hämoglobin durch Abspaltung des Globins, wobei das Eisen aus der zwei- in die dreiwertige Form übergeht. Es tritt beim Lebenden nur unter pathologischen Verhältnissen auf. O. S c h u m m beobachtete 1912 bei einer akuten Chromsäurevergiftung mit Blutkörperchenzerfall erstmals Hämatin im Blutserum. Dann wurde es bei Gasbrand (S c h u m m) , perniziöser Anämie (H e i l m e y e r) , Malaria, Schwarzwasserfieber (F a i r l e y u. B r o m f i e l d) , Icterus neonatorum, hämolytischer Anämie, akuter gelber Leberatrophie, Seifenintoxikationen (H a s e l h o r s t u. S c h a l -

tenbrand, Haselhorst u. Mertens, Bock u. Heiter, Heller, Ries), bei Extrauteringravidität (Wolowa), bei Transfusionsschäden, nach stumpfen Gewalteinwirkungen auf Weichteile (ohne offene Wunden) (Bingold) gefunden.

In Reagenzglasversuchen wurde der Farbstoff von Doljanski u. Koch (1933) nach fünf Tagen beobachtet, wenn Hämoglobin mit Blutserum bei 37 Grad im Brutschrank belassen wurde. Schon Winternitz u. F. Haurowitz beschrieben 1925 eine postmortale Hämatinbildung bei einer eitrigen Meningitis. Bei der Sektion der Leiche war die Oberfläche der inneren Organe dunkelbraun gefärbt. Die Organe wurden durch Extraktion mit Wasser von Oxyhämoglobin befreit. Die nachfolgende Extraktion mit 1 %iger Sodalösung und die spektroskopische Untersuchung ergaben das Vorhandensein von Hämatin. Zur gleichen Zeit wies O. Schumm bei Fäulnisversuchen eine Umwandlung von Hämoglobin in Hämatin nach. Er ließ bei seinen Untersuchungen Fleisch, Organe und Blut bei Temperaturen von 18 bis 37 Grad bis zu zehn Wochen faulen.

Nähere Angaben über Zeitpunkt und Ausmaß des Auftretens von Hämatin enthält die Arbeit von O. Schumm ebenso wenig wie die andern zitierten Veröffentlichungen. In der

vorliegenden Arbeit sollte daher diese Frage geprüft werden, wobei zuvor noch kurz auf die Methodik einzugehen ist.

Hauptteil

1) Nachweismethoden

a) Ältere Methoden

In der Literatur fanden sich bisher nur zwei Methoden, um Hämatin nachzuweisen. Die eine wurde von O. Schumm 1913 angegeben und beruht auf dem spektroskopischen Nachweis der Absorptionsbanden des reduzierten Hämamins (Hämochromogen). Rosenfeld, Zubrod, Blake und Shannon haben eine zweite Methode ausgearbeitet, die den Nachteil hat, daß die Messung der Lichtabsorption bei $405\text{ m}\mu$ geschieht, einer Wellenlänge also, bei der so gut wie alle Farbstoffderivate eine starke Absorption aufweisen (Schwerd).

Wolowa gab noch eine Methode zum Hämattinnachweis an, die er als diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung von Extrauteringraviditäten benutzte. Er nimmt 3 ml einer 5 %igen Alkohollösung von Pyramidon, fügt 8 Tropfen 50 %iger Essigsäure und 8 Tropfen 50 %igen Wasserstoffsuperoxyds hinzu, bringt das Gemisch mit einem Tropfen Zitratplasma zusammen und bekommt bei positiver Reaktion einen

amethystfarbenen Niederschlag. Eigene Untersuchungen ergaben aber keine Spezifität der Reaktion. Diese wird nicht nur mit Hämatin, sondern auch mit Hämoglobin positiv, ja selbst dann, wenn keine Essigsäure zugesetzt wurde.

b) Die Methode von S c h w e r d

Wir bedienten uns bei unseren Untersuchungen der 1957 von S c h w e r d angegebenen Methode zum Nachweis von Hämatin im Blut. Das Verfahren gestaltet sich folgendermaßen:

1 ml Vollblut wird mit 2 ml destilliertem Wasser verdünnt. Nach Durchmischung wird 1 ml dieser Lösung mit 2 ml Essigsäure-Azetat-Pufferlösung (14,25 ml Eisessig, 61,2 g Natriumazetat, Aqua dest. ad 200,0) versetzt und 45 Minuten lang scharf zentrifugiert (3000 bis 3500 Umdrehungen pro Minute). Die überstehende Lösung muß klar sein. Sie wird abgossen und das Sediment mit 7 ml destilliertem Wasser aufgeschüttelt, erneut abzentrifugiert und die überstehende klare Flüssigkeit wieder abgossen. Das Sediment wird nun nochmals mit 7 ml destilliertem Wasser gewaschen, wieder abzentrifugiert und jetzt nach dem Abgießen der überstehenden Flüssigkeit in 2 ml Eisessig gelöst.

Durch kolorimetrischen Vergleich mit einer 10 %igen Hämatinlösung (die durch Behandlung von 0,1 ml des zu unter-

suchenden Blutes in 1,9 ml Eisessig gewonnen wird), wird der Prozentgehalt an Hämatin ermittelt.

2) Untersuchungsmaterial

Insgesamt haben wir acht Versuchsreihen mit jeweils etwa 150 ml Leichenblut (aus dem Herzen) durchgeführt. Vorhandene Blutgerinnsel wurden mit einem Homogenisator (Ultra-Turrax) zerkleinert. Anschließend wurde die Lösung mit 2 ml bakterienreichem Blut versetzt, gemischt und zur Erreichung einer möglichst gleichmässigen Fäulnis unter mehrfachem Umrühren bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach zwei Tagen wurde das Blut in zwei Hälften geteilt. Die eine Hälfte wurde weiter bei Zimmertemperatur in einem 1-l-Weckglas aufbewahrt, das etwa 5 cm hoch mit Blut gefüllt war. Die Luftsäule über dem Blut betrug 15 cm. Sie erneuerte sich zwangsläufig beim jeweiligen Öffnen des Glases zur Probeentnahme. Die andere Hälfte wurde in 15 kleine Reagenzgläser (ausgediente Venülenröhrchen) abgefüllt und luftdicht verschlossen. Die Venülenröhrchen wurden nach einer Öffnung aus der Versuchsreihe ausgeschieden.

In den ersten zwei bis drei Tagen wurden von jeder Versuchsreihe drei bis vier Leerproben gemacht. Dann wurde

zunächst in vierzehntägigen, zuletzt in vierwöchigen Abständen die entstandene Hämatinmenge nach der oben beschriebenen Methode bestimmt. Das Blut von vier Leichen wurde etwa drei Monate, das Blut von weiteren vier Leichen fast sechs Monate lang untersucht.

	Todestag	Sektion	Todesursache	Geschl.	Alter
Leiche 1	4.12.57	4.12.57	Co-Vergift.	w.	51 J.
Leiche 2	5.12.57	6.12.57	Hirnschuß	m.	56 J.
Leiche 3	15.12.57	18.12.57	E-605-Verg.	m.	43 J.
Leiche 4	16.12.57	18.12.57	E-605-Verg.	m.	43 J.
Leiche 5	1. 1.58	5. 1.58	Erdrosselung	w.	23 J.
Leiche 6	8. 1.58	8. 1.58	Erfrierung	m.	60 J.
Leiche 7	13. 1.58	10. 1.58	Ertrinken	m.	54 J.
Leiche 8	25. 1.58	29. 1.58	Co-Vergift.	m.	19 J.

3) Ergebnisse und Diskussion

Die nachfolgende Tabelle zeigt den Prozentgehalt der während der Fäulnis entstandenen Hämatinmenge bei den acht Versuchsreihen.

Versuchsreihe		5.	6.	7.	8.	9.	11.	15.	Tag
1	o	0,2	0,5	0,5	1,0	1,6	2,5	6,6	% Hä- matin
	g	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	
		7.	8.	9.	11.	15.	42.	64.	Tag
2	o	0,5	1,4	1,6	4,0	6,0	15,0	28,0	% Hä- matin
	g	0,5	1,3	1,3	1,7	1,3	1,4	5,3	
		4.	42.	61.	76.	89.			Tag
3	o	3,4	7,1	7,1	20,0	24,3			% Hä- matin
	g	3,6	7,7	7,7	10,0	6,5			
		1.	4.	31.	54.	69.	82.		Tag
4	o	-	-	7,7	3,5	10,0	10,0		% Hä- matin
	g	-	-	5,6	5,0	8,7	6,1		
		1.	36.	64.	105.	135.	179.		Tag
5	o	-	8,0	20,0	44,0	55,0	70,0		% Hä- matin
	g	-	6,7	8,3	7,7	10,0	6,7		
		1.	22.	28.	56.	117.	161.		Tag
6	o	-	6,7	10,0	15,0	60,9	56,0		% Hä- matin
	g	-	6,1	6,1	7,5	11,0	6,5		
		1.	7.	19.	31.	47.	75.	115.	158.
7	o	-	-	6,1	6,3	11,8	12,6	31,0	50,0
	g	-	-	4,7	5,4	6,7	6,3	7,7	7,2

Versuchsreihe		10.	26.	42.	70.	101.	145.	Tag
8	o	-	6,9	5,0	7,7	24,9	50,0	‰ Hä-
	g	-	3,7	3,7	3,7	6,6	7,2	matin

Zeichenerklärung

o = offen (mit Luftzufuhr)

g = geschlossen (ohne Luftzufuhr)

Die graphischen Darstellungen zeigen deutlich, daß ein großer Unterschied zwischen den Versuchsreihen besteht, je nachdem sie unter Luftabschluß gestanden haben oder nicht. Während bei den unter Luftabschluß gehaltenen Blutproben der Hämingehalt nicht über 10 ‰ stieg, erreichten die Versuchsreihen mit Luftzufuhr in sechs Monaten bis zu 70 ‰ Hämatin.

Unter Luftzufuhr entstanden bis zum Ende des

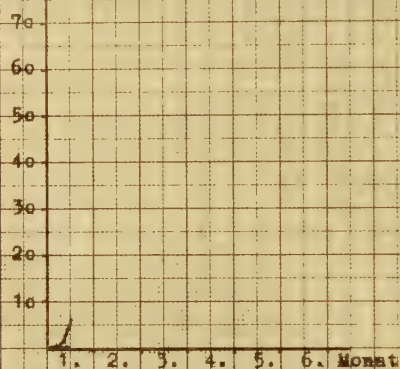
1. Monats	6 - 13 ‰,	im Mittel	8,1 ‰	Hämatin
2. Monats	8 - 27 ‰,	im Mittel	15,7 ‰	Hämatin
3. Monats	17 - 41 ‰,	im Mittel	29,0 ‰	Hämatin
4. Monats	35 - 60 ‰,	im Mittel	45,0 ‰	Hämatin
5. Monats	47 - 64 ‰,	im Mittel	55,0 ‰	Hämatin
6. Monats	70 ‰			Hämatin

Dagegen entstand unter Luftabschluß erheblich weniger Hämatin. Am Ende des

1. Monats	4 - 5 %	im Mittel	4,4 %	Hämatin
2. Monats	4 - 8 %	im Mittel	6,8 %	Hämatin
3. Monats	6 - 10 %	im Mittel	8,0 %	Hämatin
4. Monats	7 - 9 %	im Mittel	7,9 %	Hämatin
5. Monats	8 - 9 %	im Mittel	8,0 %	Hämatin
6. Monats	7 %			Hämatin

Somit kann gesagt werden, daß bei Fäulnis unter Sauerstoffzufuhr wesentlich schneller Hämatin gebildet wird. Der Hämatiningehalt war nach einem halben Jahr bereits siebenmal höher in den unter einer Luftsäule befindlichen Proben als in den Blutproben, die unter Luftabschluß aufbewahrt wurden. Die Todesursache hatte ebensowenig einen Einfluß auf die Hämatinbildung wie das Alter und Geschlecht der Verstorbenen. Selbst ein hoher Sättigungsgrad des Blutes mit Kohlenoxyd (Reihe 8) gab keine Veranlassung zu abweichenden Ergebnissen. Der Grund für dieses eigenartige Verhalten ist noch nicht geklärt. Es scheint nicht so zu sein, daß die Zerstörung des Blutfarbstoffes bei anaerober Fäulnis nicht so rasch erfolgt wie bei Sauerstoffzufuhr. Die Veränderung des Blutfarbstoffes scheint nur andere Wege zu gehen, wobei vor allem an eisenfreie Produkte (Fäulnisporphyrine) zu denken ist (S c h w e r d).

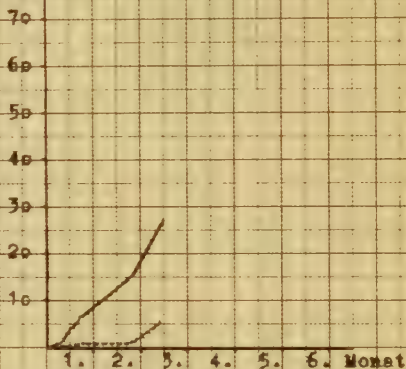
% Hämatin



Versuchssreihe 1

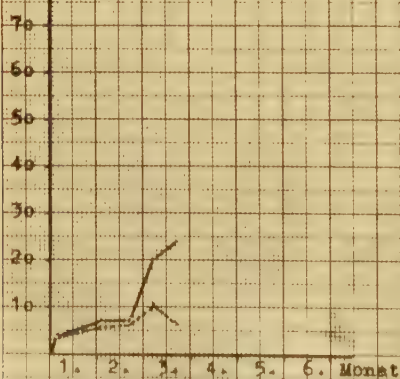
— mit Luftzufuhr
--- ohne Luftzufuhr

% Hämatin



Versuchssreihe 2

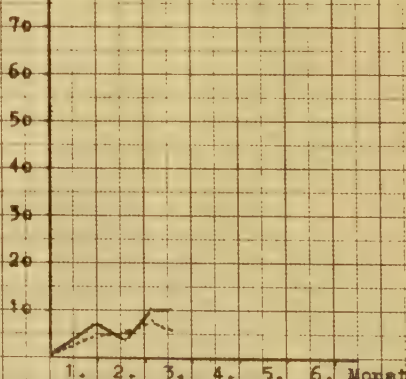
% Hämatin



Versuchssreihe 3

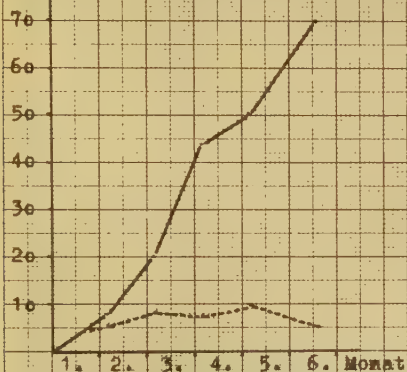
— mit Luftzufuhr
--- ohne Luftzufuhr

% Hämatin



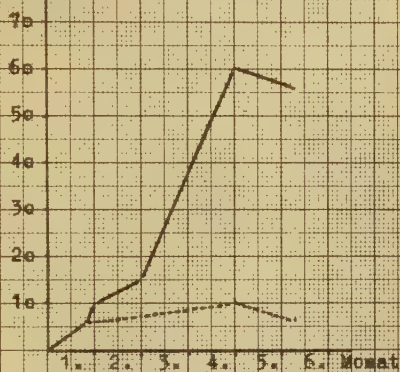
Versuchssreihe 4

% Hämatin



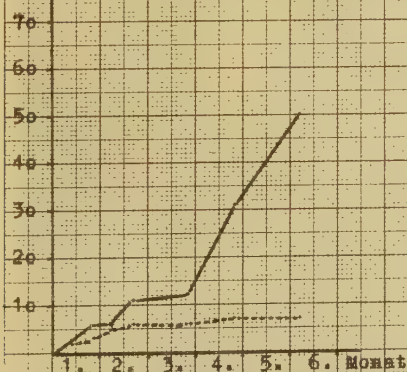
Versuchsserie 5

% Hämatin



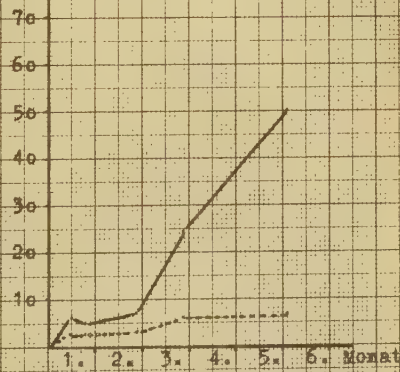
Versuchsserie 6

% Hämatin



Versuchsserie 7

% Hämatin

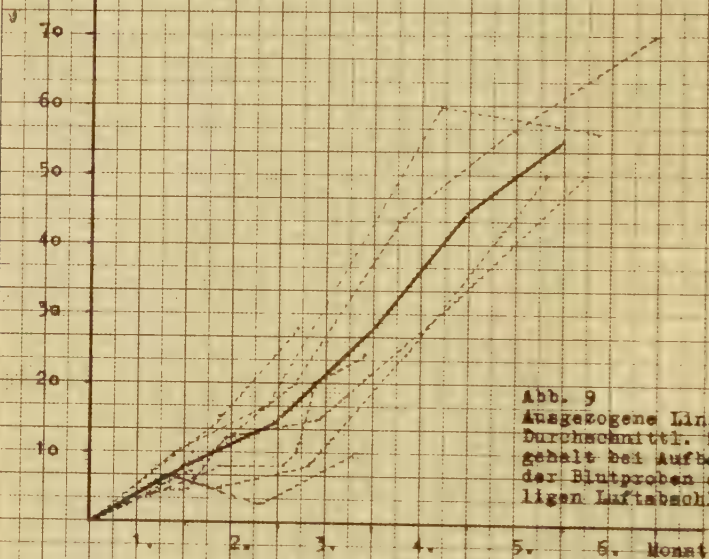


Versuchsserie 8

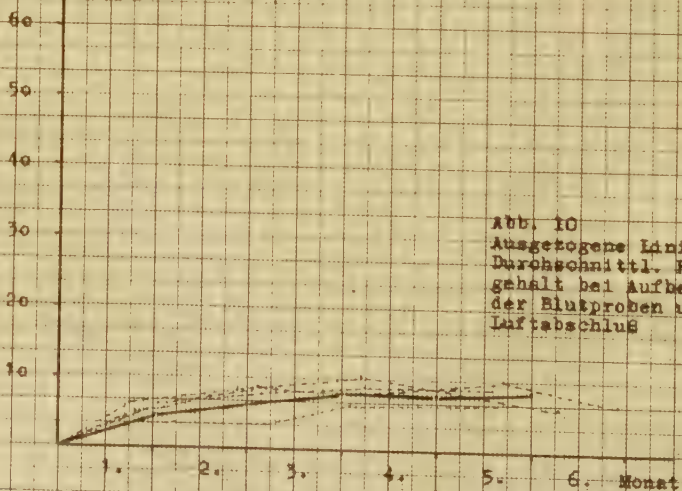
— mit Luftzufuhr

- - - ohne Luftzufuhr

% Hämatin



% Hämatin



4) Das papierelektrophoretische Verhalten der Farbstoffe im faulenden Blut

Im zweiten Teil unserer Arbeit untersuchten wir zunächst die Bindung des Hämamins an die Blutfarbstoffe auf elektrophoretischem Weg.

Versuche von M i l l e r u. A l l i n g (1947) mit Plasma von Hunden zeigten, daß das Hämatin vor allem mit den Albuminen, aber auch mit den α_1 -Globulinen läuft.

M. F i š e r - H e r m a n u. P. D a v o r i n fanden dagegen, daß sich der Farbstoff in menschlichem Serum zunächst zwar auch mit dem Albumin verbindet, daß aber bei einem Überschuß an Hämatin dieses nicht auf der Höhe der α_1 -, sondern der α_2 -Globuline erscheint. Ferner zeigten sie, daß reine Hämatinlösungen bei der Papier-
elektrophorese am Auftragungsort liegen bleiben und daß die elektrophoretisch wandernde Hämatinmenge von der zugesetzten Albuminmenge abhängig ist. Sie errechneten, daß 1 Mol Serumalbumin nicht mehr als 2 Mole Hämatin zu binden vermag.

M. R e i c h (1956) beobachtete bei Untersuchungen über das elektrophoretische Verhalten von Hämoglobin, daß dieses während der Elektrophorese als einzelnes Band mit derselben Laufgeschwindigkeit wie das β -Globulin sich bewegt.

Beim Zusetzen von Serum zum Hämoglobin beobachtete sie das zusätzliche Auftreten von Farbstreifen, die hinsichtlich der Laufzeit den α_2 -Globulinen entsprachen. Bei wenigen (3) Versuchen mit Hämatin fand M. Reich, daß der Farbstoff nicht nur mit den Albuminen, sondern auch mit den α_2 -Globulinen wandert.

5) Methodik bei den papierelektrophoretischen Versuchen

Zu unseren Versuchen wurde das Elphor-H-Gerät der Firma Bender und Hobein benutzt. Wir verwendeten Whatmanpapier Nr. 1 und einen Veronalpuffer pH 8,6 (nach Michaleliss) (29,428 g Veronalnatrium, 19428 g Natriumazetat krist. sowie 180 ml 1/10 Salzsäure mit dest. Wasser auf 3 l aufgefüllt).

Nach der Elektrophorese wurden die Streifen getrocknet, mit Amidoschwarz gefärbt und mit Methanol und Eisessig (im Verhältnis 9 : 1) differenziert. Die Versuche wurden bei 5 Grad (Kühlraum) und bei 18 Grad durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß das Hämatin bei Anwesenheit von Albumin nur im Kühlraum (Temperaturen ca. 5 Grad) als Farbstreifen mit dem Albumin wandert. Bei höheren Temperaturen beginnt sich der Farbstoff auf dem Elektrophoresestreifen zu verteilen, obwohl die Albumine nicht erkennbar ihre Laufzeit änderten.

6) Untersuchungen mit Frischblut und seinen Lösungen

Wir entnahmen frisches Vollblut und hämolysierten einen Teil davon mit Wasser. In dem anderen Teil haben wir die Blutkörperchen durch Abzentrifugieren und nachfolgendes Aufschwemmen mit mehrmals erneuerter physiologischer Kochsalzlösung erst gewaschen (5 mal) und dann durch Zusatz von dest. Wasser hämolysiert, so daß wir eine praktisch serumfreie Hämoglobinlösung zur Verfügung hatten.

Diese verschiedenen Proben wurden 14 Tage lang in zweitägigem Abstand kontrolliert. Es ergaben sich folgende Befunde:

a) Nicht hämolysiertes Vollblut:

Am ersten Tag blieb der Farbstoff am Auftragungsort liegen, während die Serumproteine in gewohnter Weise wanderten. In den nächsten Tagen wanderte Hämoglobin infolge der einsetzenden Hämolyse als schwacher, mit bloßem Auge eben erkennbarer hellbrauner Streifen mit derselben Geschwindigkeit wie die β -Globuline. Ein großer Teil blieb noch immer am Auftragungsort liegen. Nach vierzehn Tagen war der größte Teil des Hämoglobins auf der Höhe der β -Globuline zu finden, während am Auftragungsort nur noch geringe Anteile nachweisbar waren.

b) Hämolysiertes Vollblut:

Hier bewegte sich von Anfang an der größte Teil des Blutfarbstoffes in Form eines Farbstreifens. Der Streifen des Hämoglobins lag ebenfalls auf Höhe der β -Globuline. Nach vierzehn Tagen gewann man wie bei allen anderen Versuchen den Eindruck, daß die Laufstrecke der Eiweißkörper etwas zugenommen hatte.

c) Serumfreies Hämoglobin:

Dieser aus gewaschenen Blutkörperchen durch Hämolyse dargestellte Farbstoff wanderte als hellrotes, einzelnes Band mit derselben Laufgeschwindigkeit wie die β -Globuline, ohne am Auftragungsort Reste zurückzulassen.

d) Hämoglobin plus Serum:

Das Hämoglobin entspricht hinsichtlich der elektrophoretischen Beweglichkeit auch bei diesem Versuch erwartungsgemäß den β -Globulinen. Nach mehreren Tagen trat in Höhe der Albumine ein schwachbrauner, mit bloßem Auge gerade zu erkennender Farbstreifen auf, der in den nächsten acht Tagen bei drei weiteren Versuchen an Intensität nicht wesentlich zunahm.

e) Reines Serum:

Die zur Kontrolle mitlaufenden Serumstreifen zeigten

außer der schon beobachteten Verlängerung der Gesamtlaufstrecke bei zunehmender Alterung des Serums eine deutliche Abnahme der Globulinfraktionen. Sie begann etwa nach fünf Tagen und machte sich in einem Verwischen der Globulinstreifen bemerkbar. Diese Erscheinung dürfte auf Fäulnisveränderungen der Eiweißstoffe zurückzuführen sein.

Schon S c h l e y e r (1) hat darauf hingewiesen, daß bei intensiver Fäulnis von Serum in vitro die Globulinanteile der papierelektrographischen Kurven sich abflachen und daß allmählich die α_1 - und die β -Zacken nicht mehr zur Ausprägung gelangen. Vorher vermehrt sich die β -Fraktion mit zunehmendem Leichenalter, was als Ausdruck der Hämolyse zu werten ist, weil das Hämoglobin mit den β -Globulinen papierelektrophoretisch läuft (S c h l e y e r , S e l l i e r und F r e r i c k s). Eine Beziehung zwischen Leichenalter und Hämolyse konnte jedoch nicht festgestellt werden (S c h l e y e r (2)).

f) Hämatin ohne Serum

Wurde Hämatin, dargestellt aus einer Lösung von krist. Hämatin in n/10 NaOH, ohne Eiweißzusatz aufgetragen, so blieb der Farbstoff als hellbraunes Band am Auftragsort liegen, wie es M. F i š e r - H e r m a n u. P. D a v o r i n schon beschrieben haben.

g) Hämatin mit Serum:

Beim Zusetzen von Serum zum Hämatin wurde dieses elektrophoretisch beweglich. Die Affinität des Farbstoffes zu den Albuminen war größer als zu den α_2 -Globulinen, das heißt, daß der Farbstoff in erster Linie vom Albumin mitgenommen wurde. Erst als die Albumine abgesättigt waren, blieben Teile des Hämamins an der α_2 -Globulinfraction hängen und imponierten hier als schwacher, hellbrauner Streifen. Unsere Befunde deckten sich also mit denen von M. Reich und M. Fišer - Herman u. P. Davorin.

7) Ergebnisse der papierelektrophoretischen Untersuchungen an faulendem Blut

Nach diesen Untersuchungen über die Bindung des Hämamins an die Serumproteine bei frischem Blut wandten wir uns Versuchen zu, die unter denselben Bedingungen bei faulendem Blut unternommen wurden.

Zunächst entnahmen wir 0,01 bis 0,02 ml Blut einer Probe (Versuchsreihe Nr. 5), die fast sechs Monate unter Luftzufuhr gestanden hatte und in der sich nachweislich 70 % Hämatin befanden. Das Blut dieser Versuchsreihe wurde elektrophoretisch in der oben beschriebenen Weise unter-

sucht. Bei den Versuchen von M. Fišer - Herman u. P. Davorin und M. Reich und eigenen Versuchen mit frischem Serumproteingemisch, lief der Farbstoff in zwei scharf getrennten Bändern. Bei unseren jetzigen Versuchen mit faulendem Blut verteilte sich das Hämatin gleichmäßig vom Auftragungsort an bis zu den Albuminen. Eine Konzentrierung des Farbstoffes an irgendeiner Stelle konnte nicht beobachtet werden. Ebenso wenig konnten auf dem Elektrophoresestreifen nach der Färbung mit Amidoschwarz Albumine und Globuline nachgewiesen werden. Wir kamen zu dem Schluß, daß die Proteine wohl eine Denaturierung erfahren haben mußten, die eine elektrophoretische Wanderung verhinderte. Die Proteine blieben offenbar zum größten Teil am Auftragungsort zurück, wo sich eine starke Färbung mit Amidoschwarz ergab. Lediglich der Farbstoff bewegte sich diffus über das Papier und nicht mehr streifenförmig. Auch diese Erscheinung weist auf eine Denaturierung des mit dem Hämatin verbundenen Eiweißkörpers hin. Daß hierbei eine ziemlich stabile Verbindung (Hämatin-Eiweißkörper) vorlag, ergibt sich daraus, daß der Zusatz von frischem Serumweiß zu der gefauten Blutprobe nicht zu einer Anreicherung des Hämatins in Höhe der Albumine führte.

Bei einem weiteren Versuch mit Versuchsreihe Nr. 6 (eben-

falls fast sechs Monate alt) zeigte sich bei der Elektrophorese, daß die Albumine noch in gewohnter Weise liefen, daß sich aber die Globuline zu einem einheitlichen Band verbunden hatten, wie sich nach der Färbung mit Amidoschwarz ergab. Das während der Fäulnis aufgetretene Hämatin wanderte zum Teil mit dem Albumin, ein anderer Teil des Farbstoffes dagegen war vom Auftragungsort an bis zu den Albuminen verschmiert. Eine Anreicherung von Hämatin an der Stelle der α_2 -Globuline wie bei frischem Serum konnte mit Hämatinüberschuß nicht beobachtet werden.

Die Versuche haben also gezeigt, daß das Hämatin in faulendem Blut, solange sich Albumin elektrophoretisch abzeichnet, im wesentlichen mit diesem läuft. Wenn Albumin nicht mehr nachweisbar ist, dann gelingt auch eine Anreicherung des Farbstoffes an zugesetztem frischem Albumin nicht, weil der Farbstoff offenbar durch denaturierte Eiweißstoffe blockiert ist.

Schließlich muß noch auf die unter 6 d beschriebene Beobachtung des Auftretens eines Farbstreifens bei der Papierelektrophorese von alterndem Blut (nach ca. fünf Tagen) eingegangen werden. M. Reich sah schon bei ihren Versuchen nach dem Zusetzen von Serum (es mußte kein fremdes Serum sein) zu einer Hämoglobininlösung außer den deutlich

sichtbaren Farbstreifen des Hämoglobins in Höhe der β -Globuline einen weiteren in Höhe der α_2 -Globuline. Bei unseren Versuchen beobachteten wir indessen einen Farbstreifen, der mit den Albuminen lief. Wir sind nun der Frage nachgegangen, ob es sich hier um inzwischen entstandenes Methämoglobin oder um Hämatin handelt.

Dazu hämolysierten wir Blut durch Zusatz von dest. Wasser und versetzten etwa 1 ml davon mit einem Tropfen 10 %iger Kaliumferrizyanidlösung. Die hellrote Lösung schlug sofort in einen dunkelbraunen Farbton um. Von der entstandenen Methämoglobinlösung trugen wir 0,03 ml auf den Elektrophoresestreifen auf und ließen es unter den genannten Bedingungen laufen. Nach vierzehnstündiger Laufzeit trat wieder neben dem Hämoglobinstreifen ein Farbstreifen in Höhe der Albumine auf. Doch war dieser Streifen nur ganz schwach und deshalb konnte schon gesagt werden, daß es sich nicht um Methämoglobin handeln konnte, weil dieses in der Probe in hohem Prozentsatz vorlag. Eine Hämatinbestimmung dieser Lösung ergab einen positiven Befund (1 - 2 % Hämatin).

Es zeigt sich also, daß durch den Ferricyanidzusatz nicht nur Methämoglobin, sondern auch Hämatin gebildet wird. Bei einer durch Nitritzusatz hergestellten Methämoglobinlösung fiel die Hämatinprobe nur angedeutet positiv aus. Die elektrophoretische Untersuchung ergab dementsprechend nur einen ganz schwachen Farbstreifen auf Höhe des Albumins.

Es kann somit kein ernstlicher Zweifel daran bestehen, daß in alternden Blutproben (nach fünf Tagen) Hämatin auftritt, was im wesentlichen mit unseren obigen Befunden übereinstimmt. Diese Versuche zeigen ferner, daß auf papierelektrophoretischem Wege schon kleine Mengen (wenige Prozent) Hämatin darstellbar sind.

Zusammenfassung

Quantitative Hämatinbestimmungen im faulenden Blut ergaben, daß die Hämatinbildung in erheblichem Maße davon abhängt, ob das Blut unter Luftabschluß aufbewahrt wird oder nicht. Unter Luftabschluß stieg der Hämatiningehalt innerhalb von sechs Monaten bei Zimmertemperatur nicht über 10 % an, während er in den Proben, die unter einer Luftsäule aufbewahrt wurden, im gleichen Zeitraum bis 70 % erreichte.

Papierelektrophoretische Untersuchungen zeigten, daß bereits geringe Hämatinmengen auf Höhe des Albumins deutlich sichtbar in Erscheinung treten. In stark durch Fäulnis denaturiertem Blut waren die Eiweißfraktionen bei Färbung mit Amidoschwarz nicht mehr in der üblichen Verteilung darstellbar. Zunächst konnten sich die Globulinfraktionen nicht mehr genügend trennen, später blieben die Eiweißkör-

per vollständig am Auftragungsort liegen. Der vorhandene Farbstoff, zum größten Teil Hämatin, wanderte auch im faulen Blut bei der Elektrophorese, aber nicht mehr als abgesetzter Streifen, sondern verteilte sich diffus über das Papier.

Es ist mir ein Anliegen, Herrn Prof. Dr. Dr. E. Weinig für die Überlassung des Themas zu danken.

Ganz besonderen Dank schulde ich Herrn Privatdozent Dr. W. Schwerd für die Übernahme des Referates und die stets freundliche Unterstützung, die er mir bei der Durchführung der Arbeit zuteil werden ließ.

Literaturverzeichnis

- | | |
|---|---|
| Bock, A., u. A. Heiter | Über die Wirkung der in den
graviden Uterus instillierten
Seifenlösung.
Zbl. Gynäk. <u>70</u> , 53 (1948) |
| Doljanski, L., u. O. Koch | Das Blutserum als hämoglobin-
toxischer Faktor.
Virch. Arch. <u>219</u> , 401 (1933) |
| Fairley, N. H. u. R. J.
Bromfield | Zit. nach Lemberg u. Legge
(s. d.) |
| Fiser - Herman, M., u.
P. Davorin | Papierelektrophorese des Hä-
matinalbumins.
Biochem. Z. <u>324</u> 96 (1953) |
| Haselhorst, G., u. Schal-
tenbrand, G. | Vergiftung mit Schmierseife
bei Abtreibungsversuchen und
im Tierexperiment.
Z. Geb.-Hilfe u. Gynäk. <u>105</u>
398 (1933) |
| Haselhorst, G., u. E. Mer-
tens | Die Einwirkung von Seife auf
das Blut innerhalb der Gefäß-
bahn.
Klin. Wschr. <u>1934</u> , 914 |
| Heilmeyer, L. | Medizinische Spektrophotometrie
Verlag Fischer - Jena, 1933 |
| Lemberg, R., u. J. W. Legge | Hematin Compounds and Bile |

Pigments.

Interscience Publishers, New
York 1949

Miller, L., u. E. W. Alling

The effect of dl-Methionine,
l-Cystine and dl-Isoleucine
on the utilisation of paren-
terally administered dog
hemoglobine.

J. exp. Med. 85, 56 (1947)

Reich, M.

The elektrophoretic mobility
of hemoglobin and its deri-
vates and the effect of theit
addition to the Serum in
various animals species.

Austr. J. Biol. 34, 5 (1956)

Ries, W.

Aktive und konservative The-
rapie bei Seifenintoxikatio-
nen infolge Abtreibungsver-
such.

Zbl. gynäk. 74, 1371 (1952)

Rosenfeld, M., u. Ch. G. Zu-
brod; W. D. Blake; J. A.
Shannon

Methemalbumin. Appearance
during administration of pam-
aquine and quinin.

J. Clin. Invest. 27, (Suppl)
138 (1948)

Schumm, O.

1) Hämatinämie bei toxischem
Blutkörperchenzerfall.
Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.
80, 1 (1912)

2) Über den Nachweis von Hämatin in menschlichem Blutserum. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 87, 171 (1913)

3) Über Umwandlungsprodukte der Farbstoffe in Fleisch und Blut. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 147, 221 (1925)

4) Die spektrochemische Analyse natürlicher organischer Farbstoffe.

Verlag Fischer Fischer - Jena
1927

Schwerd, W.

1) Der gerichtsmedizinische Nachweis des Seifenabortes und der Seifenintoxikation. Habilitationsschrift, Erlangen 1957

2) Eine neue Methode zum Nachweis von Hämatin im Blut. Medizinische 1958, 383

3) Studien über das Verhalten von Hämatin in alterndem Blutserum.

Dtsch. Z. gerichtl. Med. 46,
772 (1958)

4) Die Bindung des Hämatins an Bluteiweißstoffe.

Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 310, 114 (1958)

Schleyer, F.

1) Papierelektrophoretische Untersuchungen des Eiweißbildes von Leichenseren.

Arch. exper. Path. Pharmakol. 221, 306 (1954)

2) Versuche zur papierelektrophoretischen Todeszeitbestimmung aus dem Hämolysegrad des Leichenserums.

Schweiz. Z. Path. Bakt. 19,
273 (1956)

Schleyer, F., K. Sellier
u. B. Frericks

Die papierelektrophoretische Bestimmung kleiner Hämoglobinkonzentrationen in kleinsten Serummengen.

Z. klin. Med. 152, 546 (1955)

Stich, W.

Biochemie und Funktion des Hämoglobins und verwandter Stoffe.

Hdb. Path. 4/2 Springer Berlin - Göttingen - Heidelberg
1957

Winternitz, F., u. F. Haurowitz

Über einen Fall von postmortalen Hämatinbildung.

Med. Klin. 1925

Wolowa, S.

Hematinreaktion (test of amount of hematin in blood in diagnosis of extrauterine pregnancy.

zbl. Gynäk. 56, 812 (1932)

L e b e n s l a u f

Am 4. Oktober 1929 wurde ich, Otto Brandt, als Sohn des Chirurgen und Frauenarztes Dr. med. Otto Brandt und seiner Ehefrau Paula, geb. Trog, in Bremen geboren.

Nach vierjähriger Volksschulzeit besuchte ich zunächst die Oberschule für Jungen in Leer (Ostfriesland), wechselte dann auf das Landschulheim Marienau/Dahlenburg über, wo ich 1951 das Abitur bestand.

Mein medizinisches Studium begann ich im Sommersemester 1951 in Erlangen. Dort legte ich im Wintersemester 1953/54 die ärztliche Vorprüfung ab. Nach sechs klinischen Semestern in Freiburg, Hamburg und Erlangen beendete ich in Erlangen am 15. Oktober 1957 das medizinische Staatsexamen. In der Folgezeit war ich im Institut für Gerichtliche Medizin und in der Chirurgischen Klinik der Universität Erlangen tätig und arbeite jetzt in der Universitätsfrauenklinik.

